بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده کشاورزی
گروه گیاه‌پزشکی

پایان‌نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیماری‌شناسی گیاهی

عنوان:

اثرات آنتاگونیستی و سنجش فعالیت برخی از گلوکانازهای گونه‌های تریکودرما روی *Phytophthora sojae* عامل پوسیدگی ریشه و طوقه سویا

استاد راهنما

دکتر دوستمراد ظفری

استاد مشاور

دکتر منصوره میرابوالفتحی

پژوهشگر:

نجمه ایوبی

خرداد ۱۳۸۹

همه امتیازهای این پایان نامه به دانشگاه بوعلی سینا تعلق دارد. در صورت استفاده از تمام یا بخشی از مطالب پایان نامه در مجلات ، کنفرانس ها و یا سخنرانی ها ، باید نام دانشگاه بوعلی سینا (یا استاد یا اساتید راهنمای پایان نامه) و نام دانشجو با ذکر ماخذ و ضمن کسب مجوز کتبی از دفتر تحصیلات تکمیلی دانشگاه ثبت شود. در غیر اینصورت مورد پیگیرد قانونی قرار خواهد گرفت.

تقدیر و تشکر

خداوند سبحان را سپاسگزارم که توفیق اتمام این پایان نامه را به من عطا کرد. بی شک نوشتن این قسمت برای من بسیار مشکل است از این جهت که ممکن است زحمات برخی دوستان نادیده انگاشته شود. در هر حال وظیفه خود می دانم که از تمامی کسانی که این کار با زحمات آنان شکل یافته تشکر و قدردانی نمایم

از استاد راهنمای ارجمندم، جناب آقای دکتر دوستمراد ظفری، به خاطر تمامی حمایت ها و راهنمایی های ارزنده و نیز به خاطر سعه صدر و بلند نظری ایشان، صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از استاد مشاور بزرگوارم، سرکار خانم منصوره میرابوالفتحی، به خاطر مشاوره های مفید ایشان و نیز به خاطر فراهم آوردن امکان انجام بخش اول این تحقیق در مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از اساتید محترم آقایان دکتر محمدجواد سلیمانی و دکتر غلام خداکرمیان به خاطر اینکه در طول تحصیل افتخار شاگردیشان را داشته و اینکه زحمت داوری این پایان نامه را قبول فرمودند، صمیمانه ممنون و سپاسگزارم.

از پرسنل محترم بخش تحقیقات بیماری های گیاهی موسسه تحقیقات گیاه پزشکی به خاطر همکاری های مؤثرشان، صمیمانه ممنون و سپاسگزارم.

در نهایت از همسر عزیزم کسی که در طی این مسیر از هیچگونه تلاش و همکاری فروگزار نکرد و همواره با سعه صدر بنده را یاری نمود، نهایت قدردانی و سپاس گذاری را دارم.

سعادت، سلامت و موفقیت روزافزون همه این عزیزان را از درگاه خداوند متعال خواستارم.

مقدمه

الف- مشخصات گیاه شناسی سویا ۱

ب- تولید و اهمیت سویا ۱

ج- بیماری‌های سویا ۲

د- اهمیت موضوع تحقیق ۲

بررسی منابع

۱-۱- پوسیدگی فیتوفتورایی سویا ۴

۱-۱-۱- علائم ۴

۱-۱-۲- عامل بیماری ۵

۱-۱-۳- کنترل ۶

۱-۱-۴- تحقیقات انجام گرفته در زمینه کنترل بیولوژیک *P. sojae* ٦

۱-۲- کنترل بیولوژیک ۷

۱-۳- تریکودرما ۹

۱-۳-۱- جنس *Trichoderma* ۹

۱-۳-۲- بررسی ریخت‌شناسی گونه‌های تریکودرما ۱۰

۱-۴- مکانیسم‌های بیوکنترلی گونه‌های تریکودرما ۱۱

۱- ۴- ۱- رقابت ۱۱

۱- ۴- ۲- آنتی بیوز ۱۲

۱- ۴- ۳- میکوپارازیتیسم ۱۴

۱- ۴- ۴- تولید آنزیمهای تخریب‌کننده دیواره سلولی ۱۵

الف- کیتینازها ۱۶

ب- گلوکانازها ۱۸

ج- بتا۱و۴گلوکاناز یا سلولاز ۱۹

د- پروتئازها ۲۱

۱- ۴- ۵- تسخیر فراریشه یا کلنیزاسیون ریشه ۲۲

۱- ۴- ۶- تحریک رشد و توسعه گیاهان ۲۳

۱- ۴- ۷- القای مقاومت در گیاهان ۲٤

۱- ۴- ۸- اصلاح و تغییر فرا ریشه ۲۵

۱- ۴- ۹- متابولیسم مواد محرک جوانه‌زنی ۲۵

مواد و روش‌ها

۲ - ۱- عامل بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی سویا (*Phytophthora sojae*) ۲۷

۲ - ۱ - ۱- نمونه‌برداری از مزارع آلوده ۲۷

۲ - ۱ – ۲- محیط کشت‌های مورد استفاده برای جداسازی شناسایی مورفولوژیک فیتوفتورا ۲۷

الف- محیط کشت CMA ۲۷

ب- محیط کشت CMA- PARPH ۲۷
ج- محیط کشت آب - آگار (WA) ۲۷
د- محیط کشت لوبیا سفید آگار (LBA) ۲۷
ر- محیط مایع عصاره شاهدانه ۲۸
ز- محیط کشت مایع سیب‌زمینی-گوجه ۲۸
س- محلول پتری ۲۸
ش- آب گل (عصاره سترون شده خاک مزرعه) ۲۸
۲ - ۱ – ۳- کشت قطعات در محیط‌های CMA و CMA-PARPH ۲۸
۲ - ۱ – ۴- خالص‌سازی بیمارگر ۲۹
۲ - ۱ – ۵- نگهداری عامل بیماری ۲۹
۲ - ۱ – ۶- شناسایی عامل بیماری ۲۹
الف- تعیین محیط کشت مناسب جهت تولید اسپورانژیوم ۲۹
ب- تولید انبوه اسپورانژیوم و تهیه زئوسپور ۳۰
ج- تولید اُاُسپور ۳۰
۲ - ۱ – ۷- آزمون اثبات بیماریزائی جدایه‌های فیتوفتورا ۳۱
الف- تهیه زادمایه عامل بیماری ۳۱
ب- شاخص ارزیابی بیماری ناشی از *P. sojae* ۳۱
ج- انجام آزمون بیماری‌زایی ۳۲
۲ -۲ – گونه‌های تریکودرما ۳۲
۲ -۲ -۱ – جدایه‌های تریکودرمای مورد استفاده ۳۲
۲ - ۲ - ۲ - محیط کشت‌های مورد استفاده در کشت تریکودرما ۳۳
الف- محیط کشت PDA ۳۳
ب- محیط کشت عصاره مالت آگار (**MEA**) ۳۳
ج- محیط مایع سیب‌زمینی –دکستروز ۳٤
د- محیط کشت ویندینگ ۳٤
۲ - ۲ - ۳- نگهداری جدایه‌های تریکودرما ۳٤
۲ - ۳- بررسی اثر آنتاگونیستی گونه‌های تریکودرما بر *P. sojae* در شرایط آزمایشگاه ۳۵
۲ - ۳- ۱- غربال جدایه‌های تریکودرما با روش آزمون کشت متقابل ۳۵
۲ - ۳- ۲- بررسی اثر مواد فرار گونه‌های تریکودرما بر جدایه *P. sojae* ۳۵
۲ - ۳- ۳- بررسی اثر آنتاگونیستی ترشحات خارج سلولی گونه‌های تریکودرما در آگار بر جدایه *P. sojae* ۳٦
۲ - ۳- ۴- مشاهده میکروسکوپی چگونگی تعامل گونه‌های تریکودرما و هیف *P. sojae* ۳۷
۲ - ۳- ۵- بررسی اثر ترشحات مایع فیلتر شده گونه‌های تریکودرما بر جدایه *P. sojae* ۳۷
الف- بررسی اثر ترشحات مایع فیلتر شده بر رشد میسلیومی *P. sojae* ۳۸
ب- بررسی اثر ترشحات مایع فیلتر شده بر تولید زئوسپور ۳۸

۲- ۴- سنجش فعالیت آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز و بتا۱و۴گلوکاناز ۳۹
۲- ۴- ۱- تهیه سوسپانسیون هیف *P. sojae* ۳۹
۲- ۴- ۲- روش تهیه بافر استات سدیم ۰/۰۵ مولار جهت استخراج آنزیم گلوکاناز ۳۹
۲- ۴-۳- کشت تریکودرما و تهیه عصاره آنزیم ۳۹
الف- استفاده از استون سرد ۴۰
ب- استفاده از سرما و خلأ (لیوفیلیز) ٤٠
۲- ۴- ۴- ارزیابی میزان کل پروتئین نمونه‌ها و سنجش پروتئین استاندارد ٤٠
الف- تهیه معرف برادفورد ٤١
ب- رسم منحنی استاندارد ٤١
۲- ۴- ۵- بررسی فعالیت آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز ٤١
الف- تهیه محلول لامینارین (Laminarin) نیم درصد ٤٢
ب- تهیه معرف دی‌نیتروسالیسیلیک‌اسید (DNS) ٤٢
ب- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز ٤٢
ج- رسم منحنی استاندارد جهت محاسبه فعالیت آنزیم بتا۱و۳ گلوکاناز ٤٣
۲- ۴- ۶- بررسی فعالیت آنزیم بتا۱و۴گلوکاناز ٤٤
الف- تهیه محلول کربوکسی‌متیل‌سلولز یک درصد ٤٤
۲- ۵- بررسی آیزوزایمهای بتا۱و۳گلوکاناز عصاره تریکودرما به روش الکتروفورزی ناپیوسته بومی ٤٥
۲- ۵- ۱- محلولهای مورد نیاز ۴۵
الف- تهیه محلول پایه اکریل آمید ٤٥
ب- بافر ژل متراکم کننده (Stacking) ٤٥
ج- بافر ژل جداکننده (Stacking Tris-Hcl) ٤٥
د- بافر تانک الکترود ۴۶
ر- تهیه آمونیوم‌پرسولفات ۱۰٪ (APS 10%) ٤٦
ز- بافر نمونه ۴۶
۲- ۵- ۲- نحوه تهیه ژل ۴۶
الف- طرز تهیه ژل جداکننده ۱۲ درصد ٤٦
ب- طرز تهیه ژل متراکم کننده ۶ درصد ٤٧
۲- ۵- ۳- شرایط الکتروفورز ۴۷
۲- ۵- ۴- رنگ آمیزی ۴۸
الف- طرز تهیه محلول TTC ٤٨
۲-۶- الکتروفورز پروتئینها ۴۸
۲-۶-۱- الکتروفورز به روش SDS-PAGE در سیستم بافری ناپیوسته ٤٨
الف- بافر تریس -اسید کلریدریک ۰/۵ مولار با pH= ۶/۸ به‌علاوه ۰/۴ درصد SDS ٤٨
ب- بافر تریس -اسید کلریدریک ۱/۵مولار با pH=۸/۸ به علاوه‌ی ۰/۴ درصد SDS ٤٨

ج- بافر تانک ۴۹
۲-۶-۲- رنگ‌آمیزی ژل اکریل‌آمید برای آشکارسازی پروتئین‌ها ٤٩
الف- تهیه محلول رنگ‌آمیزی ٤٩
ب- رنگ‌بری ژل اکریل‌آمید ٤٩
ج- تهیه محلول رنگ‌بر ۴۹
۲-۶-۳- نگهداری ژل ۴۹
۲-۷- آزمونهای گلخانه‌ای ۵۰
۲ – ۷- ۱- شرایط انجام آزمون در گلخانه ۵۰
۲ – ۷- ۲- تهیه زادمایه جهت کارهای گلخانه‌ای ۵۰
الف- تهیه زادمایه جدایه‌های تریکودرما روی سبوس گندم ۵۰
ب- تهیه سوسپانسیون اسپور تریکودرما ۵۱
ج- آغشته‌سازی بذور سویا با زادمایه بایوسوی ۵۱
۲ – ۷- ۳- بررسی اثر گونه‌های تریکودرما بر *P. sojae* در مرحله اولین برگ سه برگچه‌ای به روش تیمار خاک ۵۱
الف- تیمار خاک با *P. sojae* در مرحله سه برگی و اضافه کردن تریکودرما پنج روز بعد ۵۲
ب- تیمار خاک با تریکودرما در مرحله سه برگی و اضافه نمودن *P. sojae* پنج روز بعد ۵۲
ج- شاخص‌های ارزیابی ۵۲
۲ – ۷- ۴- اثر جدایه‌های قارچ تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر *P. sojae* به روش تیمار بذر ۵۲
۲-۷-۵- بررسی اثرگونه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر شاخص‌های رشدی گیاه در شرایط گلخانه ۵۳

نتایج و بحث

۳-۱- جدا سازی، اثبات بیماری‌زایی و شناسایی عامل بیماری ٥٤
۳-۲- بحث در خصوص شناسایی عامل بیماری ٥٦
۳- ۳- اثر آنتاگونیستی گونه‌های تریکودرما بر *P. sojae* در شرایط آزمایشگاه ٦١
۳- ۳- ۱- غربال کردن جدایه‌های تریکودرما در شرایط آزمایشگاهی به روش کشت متقابل ٦١
۳- ۳- ۲- اثر مواد فرار گونه‌های تریکودرما بر *P. sojae* ٦٣
۳- ۳- ۳- اثر ترشحات خارج سلولی گونه‌های تریکودرما بر *P. sojae* ٦٤
۳- ۳- ۴- نتایج بررسی میکروسکوپی تأثیر گونه‌های تریکودرما بر فیتوفتورا ٦٥
۳ – ۳ – ۵ – اثر ترشحات مایع فیلتر شده گونه‌های تریکودرما بر *P. sojae* ۷۰
الف- اثر غلظت‌های متفاوت ترشحات مایع فیلتر شده گونه‌های تریکودرما بر *P. sojae* ۷۰
ب- مقایسه قدرت ترشحات مایع فیلتر شده گونه‌های تریکودرما بر بازداری از رشد هیف *P. sojae* ۷۱
ج- مقایسه قدرت ترشحات مایع فیلتر شده گونه‌های تریکودرما بر بازداری از تولید زئوسپور ۷۲
۳- ۳- ۶- بحث خواص ضد قارچی گونه‌های تریکودرما بر *P.sojae* در شرایط آزمایشگاه ٧٤
۳- ۴- سنجش فعالیت آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز و بتا۱و۴گلوکاناز ۷۵
۳- ۴- ۱- منحنی استاندارد پروتئین ۷۵
۳- ۴- ۲- منحنی استاندارد آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز و بتا ۱و۴گلوکاناز ۷۶

۳- ۴- ۳- نتایج وزن تر توده قارچ تریکودرما ۷۷
الف- وزن تر توده قارچ تریکودرما در حالت سکون ۷۷
ب- وزن توده قارچ تریکودرما در حالت تکان خوردن ۷۸
۳- ۴- ۴- نتایج بررسی فعالیت آنزیم بتا ۱و۳ گلوکاناز در عصاره تغلیظ نشده تریکودرما ۷۹
الف- عصاره تغلیظ نشده تریکودرما در حالت سکون ۷۹
ب- عصاره تغلیظ نشده تریکودرما در حالت تکان خوردن ۸۰
۳- ۴- ۵- نتایج بررسی فعالیت آنزیم بتا ۱و۳ گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده بوسیله استون ۸۳
عصاره تغلیظ شده بوسیله استون حاصل رشد تریکودرما در حالت تکان خوردن ۸۳
۳- ۴- ۶- نتایج بررسی فعالیت آنزیم بتا ۱و۳ گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ ۸٤
الف- عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ و حاصل رشد تریکودرما در حالت سکون ۸۴
ب- عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ و حاصل رشد تریکودرما در حالت تکان خوردن ۸۶
۳- ۴- ۷- نتایج بررسی فعالیت آنزیم بتا ۱و۴ گلوکاناز در عصاره تغلیظ نشده ۸۷
الف- عصاره تغلیظ نشده رشد تریکودرما در حالت سکون ۸۷
ب- عصاره تغلیظ نشده رشد تریکودرما در حالت تکان خوردن ۸۹
۳- ۴- ۸- نتایج بررسی فعالیت آنزیم بتا ۱و۴ گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده بوسیله استون ۹۰
الف- عصاره تغلیظ شده بوسیله استون در حالت سکون ۹۰
ب- عصاره تغلیظ شده بوسیله استون در حالت تکان خوردن ۹۲
۳- ۴- ۹- نتایج بررسی فعالیت آنزیم بتا ۱و۴ گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ ۹۳
الف- عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ و حاصل رشد تریکودرما در حالت سکون ۹۳
ب- عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ و حاصل رشد تریکودرما در حالت تکان خوردن ۹٤
۳- ۵- نتایج بررسی ایزوزایم‌های بتا۱و۳گلوکاناز و الکتروفورز پروتئین ۹۷
۳- ۶- بحث در خصوص فعالیت آنزیمی در جدایه‌های مختلف تریکودرما ۹۸
۳-۷- نتایج اثر بیوکنترلی گونه‌های تریکودرما در مرحله ظهور اولین برگ سه برگچه‌ای به روش تیمار خاک ۱۰۰
۳-۷- ۱- ارتفاع ریشه ۱۰۰
۳-۷- ۲- وزن تر ریشه ۱۰۲
۳-۷- ۳- وزن خشک ریشه ۱۰۳
۳-۷- ۴- ارتفاع ساقه ۱۰۵
۳-۷- ۵- وزن تر اندام هوایی ۱۰۷
۳-۷- ۶- شدت بیماری ۱۰۹
۳-۷- ۷- وقوع بیماری ۱۰۹
۳-۷- ۸- مرگ گیاهچه ۱۱۲
۳-۷- ۹- تعیین میزان همبستگی بین شاخص‌های اندازه‌گیری شده حاصل از تاثیر جدایه‌های تریکودرما بر بیماری فیتوفتورایی سویا در شرایط گلخانه ۱۱۳
۳- ۸- بررسی اثر گونه‌های تریکودرما و *Bradyrhizobium japonicum* بر *P. sojae* به روش تیمار بذر ۱۱٤

۳- ۸- ۱- درصد جوانه‌زنی ۱۱۴
۳- ۸- ۲- درصد مرگ گیاهچه ۱۱٤
۳- ۸- ۳- شدت بیماری ۱۱۵
۳- ۹- بررسی اثر گونه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر رشد سویا در شرایط گلخانه ۱۱۷
۳- ۹- ۱- ارتفاع ریشه ۱۱۷
۳- ۹- ۲- وزن تر ریشه ۱۱۸
۳- ۹- ۳- وزن خشک ریشه ۱۱۸
۳- ۹- ۴- وزن تر اندام هوایی ۱۲۰
۳- ۹- ۵- ارتفاع ساقه ۱۲۱
۳- ۹- ۶- تعیین همبستگی شاخص‌های اندازه‌گیری شده تاثیر تلفیق تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم ۱۲۳
۳-۱۰- بحث در خصوص آزمون‌های گلخانه‌ای و نتیجه‌گیری کلی ۱۲۷
۳-۱۱- پیشنهادات ۱۳۰
پیوست ۱۳۲
منابع ۱۵۰

جدول ۱-۱- ژنهای کد کننده‌ی آنزیهای تجزیه کننده دیواره سلولی در تریکودرما ۲۱
جدول ۲- ۱- گونه‌های تریکودرمای دریافت شده از آزمایشگاه بیماریشناسی دانشکده کشاورزی همدان. ۳۳
جدول ۲- ۳- تهیه محیط حاوی غلظت‌های مختلف عصاره ترشحات خارج سلولی تریکودرما ۳۸
جدول ۲- ۴- تهیه محلول حاوی غلظت‌های مختلف عصاره ترشحات خارج سلولی تریکودرما ۳۹
جدول ۲-۵- تهیه محلولهای استاندارد با مقادیر مختلف گلوکز جهت رسم منحنی استاندارد ۴۳
جدول ۳-۱- نام جدایه‌های فیتوفتورا جداسازی شده، مناطق نمونه‌برداری، بافت گیاهی کشت شده ۵۴
جدول ۳-۲- تجزیه واریانس اثر محلولهای مختلف در تولید اسپورانژیوم *P. sojae* ۵۷
جدول ۳-۳- تجزیه واریانس آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های *P. sojae* جداسازی شده روی سویا در گلخانه ۵۷
جدول ۳-۴- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *P. sojae* در آزمون متقابل ۶۲
جدول ۳- ۵- تجزیه واریانس اثر بازداری جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *P. sojae* در آزمون ترکیبات فرار ۶۳
جدول ۳- ۶- تجزیه واریانس جدایه‌های تریکودرما بر *P. sojae* در آزمون ترکیبات خارج سلولی در آگار ۶۵
جدول ۳- ۷- تجزیه واریانس اثر ترشحات مایع فیلترشده تریکودرما بر رشد هیف *P. sojae* ۷۰
جدول ۳- ۸- تجزیه واریانس اثر ترشحات مایع فیلترشده تریکودرما بر تولید زئوسپور *P. sojae* ۷۳
جدول ۳- ۹- تجزیه واریانس وزن تر توده قارچ تریکودرما در حالت سکون ۷۹
جدول ۳- ۱۰- تجزیه واریانس وزن تر توده قارچ تریکودرما در حالت تکان خوردن ۷۹
جدول ۳- ۱۱- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز در عصاره تغلیظ نشده تریکودرما در حالت سکون ۸۱
جدول ۳- ۱۲- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز در عصاره تغلیظ نشده تریکودرما در حالت تکان خوردن .. ۸۲
جدول ۳- ۱۳- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده با استون در حالت تکان خوردن ۸۳
جدول ۳- ۱۴- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ در حالت سکون ۸۵
جدول ۳- ۱۵- تجزیه واریانس آنزیم بتا۱و۳گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ در حالت تکان خوردن ۸۶
جدول ۳- ۱۶- تجزیه واریانس بررسی فعالیت آنزیم بتا۱و۴گلوکاناز در عصاره تغلیظ نشده تریکودرما در حالت سکون . ۸۸
جدول ۳- ۱۷- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم بتا۱و۴گلوکاناز در عصاره تغلیظ نشده در حالت تکان خوردن ۸۹
جدول ۳- ۱۸- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم بتا۱و۴گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده با استون در حالت سکون ۹۱
جدول ۳- ۱۹- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم بتا۱و۴گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده با استون در حالت تکان خوردن ۹۲
جدول ۳- ۲۰- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم بتا۱و۴گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ در حالت سکون ۹۴
جدول ۳- ۲۱- تجزیه واریانس آنزیم بتا۱و۴گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ در حالت تکان خوردن ۹۵
جدول ۳- ۲۲- تجزیه واریانس جدایه‌های تریکودرما بر بیماری فیتوفتورایی سویا در شرایط گلخانه (شاخص‌های رویشی ریشه) ۱۰۵
جدول ۳- ۲۳- تجزیه واریانس مربوط به اثر جدایه‌های تریکودرما بر *P. sojae* در شرایط گلخانه ۱۰۸
جدول ۳- ۲۴- تجزیه واریانس مربوط به اثر جدایه‌های تریکودرما بر *P. sojae* در شرایط گلخانه ۱۱۰
جدول ۳- ۲۵- همبستگی بین شاخص‌های اندازه‌گیری شده در اثر جدایه‌های تریکودرما در کنترل *P. sojae* ۱۱۳
جدول ۳- ۲۶- تجزیه واریانس مربوط به اثر گونه‌های تریکودرما و برادی‌رایزوبیوم بر شاخص‌های رشدی سویا ۱۲۰
جدول ۳- ۲۷- تجزیه واریانس اثر گونه‌های تریکودرما و برادی‌رایزوبیوم بر شاخص‌های رشدی سویا در گلخانه ۱۲۲
جدول ۳- ۲۸- همبستگی بین شاخص‌های اندازه‌گیری شده در آزمون اثر گونه‌های تریکودرما و برادی‌رایزوبیوم ۱۲۳

جدول ۴- ۱- میانگین شدت بیماری در آزمون اثبات بیماری‌زایی ایزوله‌های جداسازی شده از سویا در گلخانه ۱۳۲
جدول ۴- ۲- میانگین تعداد اسپورانژیوم تولید شده در آزمون اثر محیط‌کشت‌های حداقل در تولید اسپورانژیوم ۱۳۲
جدول ۴- ۳- نتایج آزمون کشت متقابل عامل پوسیدگی فیتوفتورایی و جدایه های تریکودرما ۱۳۳
جدول۴-۴- میانگین اثر گونه‌های تریکودرما بر *P. sojae* در آزمون تولید مواد فرار و ترشحات خارج سلولی در آگار ۱۳٤
جدول۴- ۵- میانگین اثر بازدارندگی غلظتهای ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، و ۴۰ درصد ترشحات مایع فیلتر شده بر رشد هیف ۱۳۵
جدول۴- ۶- میانگین اثر بازدارندگی غلظتهای ۱۰، ۵، ۱ و ۰/۵درصد ترشحات مایع فیلتر شده بر تولید زئوسپور ۱۳٦
جدول ۴-۷ - میانگین وزن تر توده قارچ تریکودرما در حالت سکون و متحرک ۱۳۷
جدول ۴-۸- فعالیت آنزیم بتا ۱و۳ گلوکاناز در عصاره تغلیظ نشده تریکودرما ۱۳۸
جدول ۴-۹ - میانگین فعالیت آنزیم بتا ۱و۳ گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده تریکودرما بوسیله استون ۱۳۹
جدول ۴-۱۰- میانگین فعالیت آنزیم بتا ۱و۳ گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده تریکودرما در سرما و خلأ ۱٤۰
جدول ۴-۱۱- میانگین فعالیت آنزیم بتا ۱و۴ گلوکاناز در عصاره تغلیظ نشده تریکودرما ۱٤۱
جدول ۴-۱۲- میانگین فعالیت آنزیم بتا ۱و۴ گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده تریکودرما با استون ۱٤۲
جدول ۴-۱۳- میانگین فعالیت آنزیم بتا ۱و۴ گلوکاناز در عصاره تغلیظ شده تریکودرما در سرما و خلأ ۱٤۳
جدول ۴-۱۴- مقایسه میانگین اثر جدایه‌های تریکودرما روی بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی در شرایط گلخانه‌ای ۱٤٤
جدول۴-۱۵- مقایسه میانگین اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص‌های اندام هوایی و شدت بیماری پوسیدگی ۱٤۵
جدول۴-۱۶- میانگین درصد جوانه‌زنی بذور سویا در تیمار با جدایه‌های تریکودرما و برادی‌رایزوبیوم ۱٤٦
جدول ۴-۱۷- مقایسه میانگین درصد مرگ گیاهچه و شدت بیماری در تیمار با جدایه‌های تریکودرما و برادی‌رایزوبیوم در شرایط گلخانه‌ای ۱٤۷
جدول ۴-۱۸- مقایسه میانگین شاخص‌های رویشی ریشه در تیمار با جدایه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم ... ۱٤۸
جدول ۴-۱۹- مقایسه میانگین شاخص‌های رویشی اندام هوایی در تیمار با جدایه‌های تریکودرما و برادی‌رایزوبیوم ۱٤۹

شکل ۱-۱- ساختمان کیتین..... ۱۶
شکل ۱-۲- نحوه فعالیت آنزیم کیتیناز ۱۸
شکل ۱-۳- ساختمان سلولز..... ۲۰
شکل ۳- ۱- اثبات بیماری‌زایی جدایه های جداسازی شده از سویا در گلخانه ۵۵
شکل ۳- ۲- اثر محیط‌های کشت در تولید اسپورانژیوم ۵۶
شکل ۳- ۳-سویای آلوده به بیماری فیتوفتورایی..... ۵۸
شکل ۳- ۴- تصاویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی از *Phytophthora sojae*..... ۵۹
شکل ۳- ۵- تصاویر میکروسکوپی از *Phytophthora sojae*..... ۶۰
شکل ۳- ۶- درصد بازدارندگی گونه‌های تریکودرما از رشد هیف *P. sojae*، در آزمون کشت متقابل ۶۱
شکل ۳- ۷- تقابل عامل بیماری با تریکودرما در آزمون کشت متقابل..... ۶۲
شکل ۳- ۸- اثر بازدارندگی جدایه‌های تریکودرما بر رشد هیف *P. sojae*، در آزمون ترکیبات فرار..... ۶۴
شکل ۳-۹- اثر بازدارنگی در گونه *T. atroviride* روی رشد هیف فیتوفتورا در آزمون مواد فرار ۶۴
شکل ۳- ۱۰- نمودار اثر جدایه‌های تریکودرما بر *P. sojae*، در آزمون ترکیبات خارج سلولی تریکودرما در آگار..... ۶۵
شکل ۳- ۱۱- نزدیک شدن هیف *T. atroviride* به هیف *P. sojae*، در کشت روی اسلاید ۶۶
شکل۳- ۱۲- تغییر شکل و خم شدن هیف *P. sojae*، بر اثر نزدیک شدن هیف *T. koningiopsis*..... ۶۷
شکل ۳-۱۳- به‌هم چسبیدن و مضمحل شدن هیف *P. sojae*، بر اثر نزدیک شدن هیف *T. brevicompactum* ۶۷
شکل ۳- ۱۴- اضمحلال ااسپور *P. sojae*، بر اثر نزدیک شدن هیف *T. virens*..... ۶۸
شکل ۳- ۱۵- اضمحلال ااسپور و تغییر شکل هیف *P. sojae*، بر اثر نزدیک شدن هیف *T. viride* روی اسلاید..... ۶۸
شکل ۳- ۱۶- تغییر شکل نوک هیف *P. sojae* ، بر اثر نزدیک شدن هیف *T. atroviride* روی اسلاید..... ۶۹
شکل ۳- ۱۷- به‌هم چسبیدن و گره خوردن هیف‌های *P. sojae*، در هم بر اثر نزدیک شدن هیف *T. koningii*..... ۶۹
شکل ۳- ۱۸- مقایسه میانگین اثر غلظتهای مختلف ترشحات مایع فیلتر شده بر *P. sojae* ۷۱
شکل ۳- ۱۹- مقایسه میانگین اثر بازدارندگی غلظتهای مختلف ترشحات مایع فیلتر شده تریکودرما بر *P. sojae* ۷۲
شکل ۳- ۲۰- مقایسه میانگین اثر بازدارندگی غلظتهای مختلف ترشحات مایع فیلتر شده تریکودرما بر تولید زئوسپور ۷۳
شکل ۳- ۲۱- منحنی استاندارد مورد استفاده برای تعیین میزان پروتئین تام عصاره‌ها ۷۵
شکل ۳- ۲۲- منحنی استاندارد مورد استفاده برای محاسبه فعالیت آنزیم β-1,3-glucanase ۷۶
شکل ۳- ۲۳- منحنی استاندارد مورد استفاده برای محاسبه فعالیت آنزیم β-1,4-glucanase ۷۶
شکل ۳- ۲۴- مقایسه میانگین وزن تر توده قارچی تریکودرما در حالت سکون..... ۷۷
شکل ۳- ۲۵- مقایسه میانگین وزن تر توده قارچی تریکودرما در حالت تکان خوردن..... ۷۸
شکل۳- ۲۶- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، گونه‌های تریکودرما در عصاره تغلیظ نشده در حالت سکون ۸۱
شکل۳- ۲۷- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، گونه‌های تریکودرما در عصاره تغلیظ نشده در حالت تکان خوردن ۸۲
شکل۳- ۲۸- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، گونه‌های تریکودرما در عصاره غلیظ شده با استون در حالت تکان خوردن ۸۴
شکل۳- ۲۹- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، گونه‌های تریکودرما در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ در حالت سکون ۸۵
شکل۳- ۴۰- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، تریکودرما در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ در حالت تکان خوردن ... ۸۷
شکل۳- ۴۱- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، گونه‌های تریکودرما در عصاره تغلیظ نشده در حالت سکون ۸۸

شکل۳- ۴۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، گونه‌های تریکودرما در عصاره تغلیظ نشده در حالت تکان خوردن ۹۰
شکل۳- ۴۳- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، گونه‌های تریکودرمادر عصاره تغلیظ شده با استون در حالت سکون..... ۹۱
شکل۳- ۴۴- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، گونه‌های تریکودرمادر عصاره تغلیظ شده با استون در حالت تکان خوردن ۹۳
شکل۳- ۴۵- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، گونه‌های تریکودرما در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ در حالت سکون ۹۵
شکل۳- ۴۶- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی، تریکودرما در عصاره تغلیظ شده در سرما و خلأ در حالت تکان خوردن .. ۹۶
شکل۳- ۴۷- تغییر رنگ DNS از زرد به قرمز در مخلوط آزمایشی گلوکاناز ۹۶
شکل ۳- ۴۸- ژل حاصل از الکتروفورز پروتئین عصاره گونه‌های *T. brevicompactum* ، *T. virens* و *T. viride* ۹۷
شکل ۳- ۴۹-اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص ارتفاع ریشه سویا در شرایط گلخانه‌ای ۱۰۱
شکل ۳- ۵۰- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وزن تر ریشه سویا در شرایط گلخانه‌ای..... ۱۰۳
شکل ۳- ۵۱- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وزن خشک ریشه سویا در شرایط گلخانه‌ای ۱۰۴
شکل ۳- ۵۲- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص ارتفاع ساقه سویا در شرایط گلخانه‌ای..... ۱۰۶
شکل ۳- ۵۳- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وزن تر اندام هوایی سویا در شرایط گلخانه‌ای ۱۰۸
شکل ۳- ۵۴- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص شدت بیماری در شرایط گلخانه‌ای ۱۱۱
شکل ۳- ۵۵- اثر جدایه‌های تریکودرما روی شاخص وقوع بیماری در شرایط گلخانه‌ای ۱۱۱
شکل ۳- ۵۶- اثر جدایه‌های تریکودرما بر مرگ گیاهچه سویا بر اثر فیتوفتورا در شرایط گلخانه‌ای ۱۱۲
شکل ۳- ۵۷- اثر جدایه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر درصد جوانه‌زنی بذور سویا در شرایط گلخانه‌ای . ۱۱۵
شکل ۳- ۵۸- اثر جدایه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر درصد مرگ گیاهچه در شرایط گلخانه‌ای ۱۱۶
شکل ۳- ۵۹- اثر جدایه‌های تریکودرما و برادی‌رایزوبیوم بر شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه در شرایط گلخانه‌ای ۱۱۶
شکل ۳- ۶۰- اثر جدایه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر ارتفاع ریشه سویا در شرایط گلخانه‌ای ۱۱۷
شکل ۳- ۶۱- اثر جدایه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر وزن تر ریشه سویا در شرایط گلخانه‌ای ۱۱۸
شکل ۳- ۶۲- اثر جدایه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر وزن خشک ریشه سویا در شرایط گلخانه‌ای..... ۱۱۹
شکل ۳- ۶۳- اثر جدایه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر وزن تر اندام هوایی سویا در شرایط گلخانه‌ای..... ۱۲۱
شکل ۳- ۶۴- اثر جدایه‌های تریکودرما و باکتری برادی‌رایزوبیوم بر ارتفاع ساقه سویا در شرایط گلخانه‌ای ۱۲۲
شکل ۳-۶۵- نمایی از کشت سویا در گلخانه جهت انجام آزمون‌های گلخانه‌ای ۱۲۴
شکل ۳-۶۶- سویا مایه‌زنی شده با *P. sojae*..... ۱۲۴
شکل ۳- ۶۷- مقایسه میزان رشد ریشه ۱۲۵
شکل ۳-۶۸- مقایسه میزان رشد هوایی ۱۲۵
شکل ۳-۶۹- سویای تیمارشده با عامل بیماری و گونه *T. brevicompactum*.....۱۲۶

چکیده

سویا *Glycine max* (L.) Merr. گیاهی است از خانواده بقولات و یکی از مهمترین دانه‌های روغنی جهان محسوب می‌شود. یکی از عوامل محدودکننده کشت سویا، بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه است. با توجه به ماهیت عامل بیماری که خاکزاد می‌باشد مبارزه شیمیایی نه تنها نمی‌تواند کاملاً موثر باشد بلکه باعث تخریب محیط زیست نیز می‌گردد. در این بررسی اثر جدایه‌های مختلف تریکودرما بر *Phytophthora sojae* در دو بخش آزمون‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مطالعه شد. در بررسی‌های آزمایشگاهی اثر ۲۹ جدایه از گونه‌های *Trichoderma ceramicum*، *T. virens*، *T. pseudokoningii*، *T. koningii*، *T. koningiosis*، *T. atroviridae*، *T. viridescens*، *T. asperellum*، *T. brevicompactum*، *T. orientalis*، *T. spirale*، *T. harzianum*، *T. citrinoviride*، *T. longibracitum* و *T. viridae* در آزمون کشت متقابل ارزیابی شد و از بین آنها ۱۴ جدایه از گونه‌های مختلف جهت انجام آزمون‌های آزمایشگاهی دیگر شامل : آزمون ترکیبات فرار، ترشحات خارج سلولی در آگار، کشت اسلاید، ترکیبات خارج سلولی فیلتر شده و آزمون‌های گلخانه‌ای روی *P. sojae*انتخاب شدند. دامنه درصد بازداری رشد هیف *P. sojae* در کشت متقابل با گونه‌های مختلف تریکودرما ۲۹/۲ – ۷۵/۸۵ درصد، با استفاده از ترکیبات فرار آنها ۶/۱۶ – ۴۹/۰۷ درصد و در ترشحات خارج سلولی آنها در آگار ۸/۵ – ۱۰۰ درصد محاسبه گردید و به ترتیب گونه‌های *T. virens* ، *T. orientalis* و *T. brevicompactum* در آزمون کشت متقابل، *T. atroviride* در آزمون ترکیبات فرار و *T. ceramicum* ،*atroviride* ،*T. virens* و *T. brevicompactum* در آزمون ترشحات خارج سلولی در آگار سبب بیشترین بازداری شدند. به منظور بررسی اثر ترکیبات فیلتر شده تریکودرما بر بازداری از رشد هیف *P. sojae* غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درصد این ترکیبات در محیط کشت CMA و غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ درصد آنها در آب مقطر دیونیزه سترون برای تأثیر بر تولید زئوسپور تهیه شد. نتایج نشان داد که ترکیبات فیلتر شده خارج سلولی تمامی گونه‌ها سبب بازداری رشد هیف و کاهش تولید زئوسپور شدند، غلظت‌های مختلف اثر بازدارندگی متفاوتی داشته و بیشترین بازدارندگی مربوط به *T. virens* و *T. brevicampactom* بود. میزان فعالیت آنزیم‌های بتا۱و۳ گلوکاناز و بتا۱و۴ گلوکاناز جدایه‌های اخیرالذکر در حضور گلسیرین و هیف فیتوفتورا به عنوان منبع کربن در محیط کشت و در دو حالت نگهداری روی شیکر (تکان خوردن) و نگهداری بدون شیک (سکون)، در عصاره خام، عصاره غلیظ شده با استون و عصاره غلیظ شده در سرما و خلأ (لیوفیلیز شده) مورد ارزیابی قرار گرفتند. در بررسی اثر دو منبع کربن در تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک توسط تریکودرما، نتایج نشان داد که کاربرد هیف فیتوفتورا در مقایسه با گلسیرین به عنوان منبع کربن در محیط رشد گونه‌های تریکودرما سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های بتا۱و۳گلوکاناز و بتا۱و۴گلوکاناز در تمامی گونه‌ها گردید. موفق‌ترین گونه‌ها در تولید آنزیم بتا۱و۳ گلوکاناز در حالت سکون، گونه‌های *T. orientalis* و *T. brevicompactum* و در حالت تکان خوردن، گونه‌های *T. brevicompactum* و *T. virens* بودند و در تولید آنزیم بتا۱و۴گلوکاناز موفق‌ترین گونه‌ها در هر دو حالت *T. brevicompactum* ، T. *virens* و *T. viride* بودند. از الکتروفورز برای بررسی ایزوزایم‌های بتا۱و۳گلوکاناز سه گونه اخیرالذکر استفاده شد که به علت غلظت پایین آنزیم باندی مشاهده نشد.
بررسی‌های گلخانه‌ای به صورت سه آزمایش که شامل: بررسی اثر بیوکنترلی گونه‌های تریکودرما بر بیماری پوسیدگی ناشی از فیتوفتورا در مرحله ظهور اولین برگ سه برگچه‌ای (v1) به روش تیمار خاک، اثر تریکودرما و ترکیب تجاری *Bradyrhizobium japonicum* در کنترل بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی سویا به روش تیمار بذر و اثر تریکودرما و ترکیب تجاری *B. japonicum* بر شاخص‌های رشدی گیاه انجام گرفت که نتایج نشان داد، در تمامی آزمایشات گلخانه‌ای گونه‌های *T. brevicompactum* و *T. orientalis* موثرتر از بقیه گونه‌ها بودند، این دو گونه در آزمون‌های آزمایشگاهی و بررسی فعالیت آنزیمی نیز موفق‌تر بودند و باعث کنترل بیماری شدند. بنابراین می‌توان گونه‌های *T. brevicompactum* و *T. orientalis*، که اخیراً از ایران جمع‌آوری و شناسایی شده‌اند، را به عنوان عوامل بیوکنترل جدید علیه بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه و طوقه سویا معرفی کرد.

واژگان کلیدی: *Phytophthora sojae*، *Trichoderma* spp.، اثرات آنتاگونیستی، آنزیم بتا۱و۳ گلوکاناز، آنزیم بتا۱و ۴ گلوکاناز

مقدمه

پیش گفتار

مبدا گیاه سویا .*Glycine max* (L.) merr را آسیای شرقی می‌دانند، دانه‌های آن دارای حدود ۱۸٪ روغن خوراکی بسیار مرغوب و ۳۵ تا ۵۰٪ پروتئین می‌باشند که در آسیای شرقی آن را به دلیل پروتئین زیاد، گوشت گیاهی نامیده‌اند. ارقام مختلف این گیاه اولین بار در سال ۱۳۱۰ و سپس در سالهای ۱۳۱۶ و ۱۳۱۸ از آسیای شرقی و آلمان به ایران وارد شدند (مجتهدی و لشکری، ۱۳۵۵).

الف- مشخصات گیاه شناسی سویا

سویا گیاهی است از خانواده بقولات، یکساله با یک ساقه اصلی مستقیم، شاخه‌های منشعب و رشد بوته مانند که دارای برگ‌های مرکب سه برگچه‌ای پر مانند می‌باشد. گلها به رنگ ارغوانی یا سفید به صورت خوشه‌های جانبی کوتاه روی پایک‌های محدود و به صورت محدود یا نامحدود تولید می‌شوند. میوه به صورت نیام کشیده یا مستقیم و پوشیده از کرک می‌باشد. یک تا سه بذر بیضی تا کروی در هر غلاف وجود دارد. رنگ بذرها متنوع و زرد کمرنگ، سبز زیتونی و یا قهوه ای تا سیاه مایل به قرمز می‌باشد. وزن هزار دانه از ۱۴۰ تا ۱۵۰ گرم متغیر است (سینکلر، ۱۹۸۹).

گیاهان خانواده بقولات دارای باکتری‌هایی هستند که می‌توانند ازت هوا را جذب نموده و به مواد آلی تبدیل نمایند این باکتری در ریشه‌های گیاه مستقر شده و تولید غده‌های کوچکی می‌نمایند. در این غده‌ها، باکتری‌ها ازت هوا را جذب نموده و تبدیل به فرم قابل مصرف توسط گیاه می‌کنند. برای هر گونه از گیاهان این خانواده، گونه‌های مخصوص باکتری وجود دارد. در گیاه سویا باکتری *Bradyrhizobium japonicum* می‌تواند روی این گیاه تولید غده نماید (مجتهدی و لشکری، ۱۳۵۵).

ب- تولید سویا

تولید دانه‌های روغنی در جهان طی سالهای ۱۹۸۸-۱۹۸۷، ۲۰۲ میلیون تن تخمین زده شد و سویا نصف کل این مقدار را به خود اختصاص داد. آمریکا، برزیل، چین و آرژانتین به ترتیب بزرگترین تولید کننده‌گان سویا در جهان می‌باشند (سینکلر، ۱۹۸۹).

سابقه کشت سویا در ایران به سالهای میانی دهه ۱۳۴۰ مربوط می‌شود در سال ۱۳۴۶ سطح زیر کشت سویا در ایران ۳۸۳۱ هکتار و میزان محصول ۲۰۵۵ تن بوده است. عملکرد در واحد سطح نیز ۵۳۶ کیلوگرم در هکتار بوده است. پس از آن با تأسیس شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی و شرکت‌های کشت و صنعت در مناطق مستعد کشت سویا، سطح زیر کشت افزایش یافته و با پیشرفت تکنولوژی کشاورزی راندمان تولید نیز بهبود یافته است. به طوری که سطح زیر کشت در سال زراعی ۸۶-۱۳۸۵ حدود ۷۵ هزار هکتار برآورد شده و فقط در ۸ استان کشت گردیده

است که ۸۲/۷۳ درصد آن آبی و ۱۷/۲درصد نیز به صورت دیم بوده است. میزان تولید سویا کشور حدود ۱۷۹ هزار تن برآورد شده که ۸۵/۱۷ درصد آن از کشت آبی و ۱۴/۸۳ درصد مابقی از کشت دیم بدست آمده است. راندمان تولید در هکتار سویا آبی کشور ۲۴۵۵۰۴ کیلوگرم و عملکرد دیم ۲۰۴۶۵۲کیلوگرم بوده است (آمارنامه زراعی ۸۵ - ۸۶).

ج- بیماری‌های سویا

مزارع سویا ممکن است در معرض عوامل بیماری‌زای زنده (قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها، نماتدها، فیتوپلاسماها و گیاهان انگل گلدار) یا غیر زنده قرار گرفته و بسته به شرایط محیطی مختلف و نوع رقم، دچار کاهش عملکرد یا کاهش درصد روغن و پروتئین دانه‌ها شوند. بیش از ۱۰۰ عامل بیماری‌زا شناخته شده‌اند که باعث ایجاد بیماری در سویا می‌شوند. حدود ۳۵تای آنها از نظر اقتصادی اهمیت دارند. در کلیه مزارع زیر کشت سویا معمولاً یک یا چند بیماری یافت می‌شود. از بیماری‌های مهم قارچی سویا می‌توان به پوسیدگی ذغالی ناشی از قارچ *Macrophomina phaseolina*، پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani*، لکه ارغوانی یا لکه برگی و سوختگی سرکوسپورایی ناشی از *Cercospora kikuchii*، سفیدک کرکی *Peronospora manshurica*، مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از *Phytophthora sojae*، لکه قهوه‌ای یا لکه برگی سپتوریایی *Septoria glycines*، آنتراکنوز *Colletotrichum truncatum*، لکه برگی آلترناریایی *Alternaria tenuissima* اشاره کرد. خسارت ناشی از بیماریهای خاکزاد در سویا بیشتر از بیماریهای برگ و ساقه و غلاف می‌باشد (رجبی، ۱۳۸۱).

د- اهمیت موضوع تحقیق

سویا در ایران در استان‌های اردبیل، آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، خراسان، گلستان، مازندران، گیلان و لرستان کشت می‌شود. علی‌رغم آب و هوای مساعد برای کشت سویا در استان لرستان، به دلیل عوامل متعددی سطح زیر کشت این گیاه کاهش یافته است که یکی از عوامل محدود کننده کشت در استان لرستان بیماری بوته میری سویا بوده که در اکثر مزارع سویا مشاهده شده است (محمدی و همکاران، ۲۰۰۷) و در سال زراعی ۸۶ - ۱۳۸۵ سطح زیر کشت این محصول در این استان به ۲۵۴ هکتار به‌صورت کشت آبی رسیده است (آمارنامه زراعی ۸۵-۸۶).

جداسازی و شناسایی عامل بیماری مسلماً اولین گام جهت مبارزه با آن می‌باشد. از سوی دیگر با توجه به ماهیت عامل بیماری که خاکزاد می باشد مبارزه شیمیایی نه تنها نمی‌تواند کاملاً موثر

باشد بلکه باعث تخریب محیط زیست نیز می‌گردد. در ضمن مقاومت به قارچ‌کشها نیز باعث کاهش هر چه بیشتر مقبولیت آنها شده است. نیاز به کشاورزی پایدار و وابستگی کمتر به آفت‌کش‌های شیمیایی مستلزم روش‌های جایگزین برای کنترل بیماری‌های خاکزاد می‌باشد (صادقی گرمارودی و همکاران،۲۰۰۷؛ محمدی و همکاران، ۲۰۰۷)، لذا مبارزه بیولوژیک بیماری‌های گیاهی با استفاده از میکروارگانیزم‌های غیر بیماریزا توجه بسیاری از محققین را به خود جلب نموده است. تحقیقات نشان داده که معرفی آنتاگونیست‌های مختلف از جمله آنتاگونیست قارچی جنس تریکودرما به محیط خاک و ریزوسفر می‌تواند از خسارت بیماری تا زیر آستانه زیان اقتصادی بکاهد. این موفقیت همراه با سلامت محیط زیست توانسته این روش را یکی از مقبولترین روش‌های کنترل بیماری‌ها در مبارزه تلفیقی بیماری‌های گیاهی نماید. پدیده بیوکنترل از راهکارهای مختلف اعمال می‌شود که این راهکارها بعنوان مکانیزم‌های بیوکنترل مورد بررسی مفصل قرار داده شده است. این مکانیزم‌ها شامل پدیده آنتی بیوز (Antibiosis)، رقابت برای فضا و مواد غذایی، تولید آنزیمهای لیزکننده و پارازیتیسم، افزایش رشد گیاه و القاء مقاومت می‌باشند (هارمن، ۲۰۰۴). کارهای قابل توجهی که اساساً در طول دهه‌ی اخیر انجام شده نشان داده‌اند که آنزیمهای تجزیه کننده دیواره سلولی که توسط استرین‌های مختلف تریکودرما تولید می‌شوند، به عنوان اجزای فعال در فرمول قارچکش‌های جدید به کار می روند و همچنین باعث القا مقاومت در گیاه می‌شوند (مونته، ۲۰۰۱) لذا در این بررسی با توجه به جمع آوری ، شناسایی و تعیین توالی تعداد زیادی از گونه‌های تریکودرما[1] در آزمایشگاه بیماری‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، هدف این تحقیق آن شد تا تأثیر تعدادی از آنها بر قارچ عامل بیماری بوته‌میری سویا در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد ارزیابی قرار گیرد. به دنبال آن میزان تولید دو آنزیم سلولاز و بتا ۱و۳گلوکاناز توسط تریکودرما در بستر دیواره سلولی عامل بیماری مورد آزمون قرار گرفت و در نهایت اثر گونه‌های تریکودرما بر رشد گیاه سویا و فعالیت باکتری همزیست آن بررسی شود.

[1] . *Trichoderma*

فصل اول

بررسی منابع